

# VU Research Portal

## Cat-scratch disease

Vermeulen, M.J.

2009

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Vermeulen, M. J. (2009). *Cat-scratch disease: Diagnostic and clinical aspects of Bartonella henselae infection*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## SAMENVATTING VOOR NIET-INGEWIJDEN

# Kattenkrabziekte. Diagnostische en klinische aspecten van *Bartonella henselae* infectie

## Deel I Introductie

In de introductie van dit proefschrift (Hoofdstuk 1) wordt een literatuuroverzicht gegeven van de verschillende aspecten van kattenkrabziekte ('cat-scratch disease', CSD). Daarbij komen de geschiedenis van de ontdekking van de bacterie, microbiologische aspecten, epidemiologie en het ontstaan en beloop van CSD aan de orde. Daarnaast wordt het spectrum aan klinische uitingsvormen beschreven, de diagnostische mogelijkheden en de huidige kennis omtrent de therapie.

Kattenkrabziekte wordt veroorzaakt door infectie met een bacterie, *Bartonella henselae* (*B. henselae*), na besmetting via de krab van een kat. Het komt het meeste voor bij kinderen en jonge volwassenen. Meestal presenteert CSD zich met een huidlesie gevolgd door een vergrote ontstoken klier ('lymphadenopathy'), die lang aan kan houden, maar spontaan verdwijnt. Dit noemen we de klassieke vorm van kattenkrabziekte. Antibiotische therapie voor deze vorm is niet effectief gebleken, afwachten volstaat. Daarnaast kan kattenkrabziekte zich ook atypisch presenteren. De bacterie heeft zich dan verspreid in het lichaam en kan ontsteking veroorzaken in hersenen, botten, lever en milt, ogen, hart en/of andere organen. Een overzicht van deze atypische vormen wordt in de introductie gegeven.

Hoewel patiënten in die gevallen ernstig ziek kunnen zijn, genezen zij bijna altijd volledig. Dat is anders bij patiënten met een gestoorde afweer ('immunocompromised'), zoals patiënten met het human immunodeficiency virus (HIV) of met immuunsuppressieve medicatie. Bij deze patiënten kan infectie met *B. henselae* leiden tot ernstige infecties, zoals bacillaire angiomatosis. Bij deze aandoening treden ernstige vaatwoekeringen op in de huid, die kunnen lijken op kwaadaardige tumoren. Deze groep patiënten heeft wel baat bij antibiotische behandeling.

Omdat kattenkrabziekte op klinische gronden vaak moeilijk te onderscheiden is van andere ziekten, zoals onder andere tuberculose en kanker, is het belangrijk om de ziekte betrouwbaar aan te kunnen tonen of uit te sluiten. De bacterie is moeilijk te kweken en histologische bevindingen zijn aspecifiek. Daarom wordt veel gebruik gemaakt van serologische testen ('serology'), waarbij in het serum van de patiënt antistoffen ('immunoglobulines'), tegen de bacterie worden aangetoond. De twee antistoffen die worden aangetoond zijn IgM en IgG die gericht zijn tegen de bacterie. Daarbij wordt vooral gebruik gemaakt van twee technieken, te weten indirecte immuunfluorescentie ('IFA') en enzym-gelabelde immuunfluorescentie ('ELISA').

Daarnaast gebruikt men steeds vaker de polymerase chain reaction (PCR) om DNA van de bacterie in pus of weefsel aan te tonen. De betrouwbaarheid van de verschillende testen, uitgedrukt in sensitiviteit en specificiteit, blijkt uiteen te lopen. Sensitiviteit wordt gedefinieerd als het percentage van de patiënten met de aandoening die door de test als 'ziek' wordt gezien. Specificiteit is het percentage van de patiënten zonder de ziekte, die door de test als 'niet-ziek' wordt aangemerkt. Naast een hoge sensitiviteit ofwel gevoeligheid, moet de test ook een hoge specificiteit hebben, zodat de kans op een onjuiste diagnose zo laag mogelijk is.

Het hoofddoel van dit proefschrift is om de diagnostische waarde van de gangbare serologische diagnostische technieken te evalueren en zo mogelijk te verbeteren. Tevens heeft het tot doel de waarde te bestuderen van PCR bepaling in serummonsters van CSD patiënten, door middel van een nieuwe real-time PCR. Tot slot is het doel om de rol van *B. henselae* in het ontstaan van Henoch-Schönlein purpura op te helderen en om een bijdrage te leveren aan de kennis over vertebrale osteomyelitis, één van de atypische verschijningsvormen van CSD.

## Deel II

### *B. henselae* serologie voor de diagnose kattenkrabziekte

In Hoofdstuk 2 wordt de diagnostische waarde van vijf serologische testen bestudeerd in een groep van 51 bewezen CSD patiënten en 55 controles. De diagnose CSD was gebaseerd op klinische gegevens, een positieve PCR en het ontbreken van een andere diagnose die de symptomen zouden kunnen verklaren. De controles waren patiënten die aanvankelijk werden verdacht van CSD, maar die uiteindelijk een andere diagnose kregen en een negatieve PCR hadden. De drie testen op anti-*B. henselae* IgM (met behulp van de IFA en ELISA techniek) lieten een lage sensitiviteit zien (53-65%) bij een specificiteit van 91-93% en zijn daarmee lang niet ideaal. Twee testen gericht op anti-*B. henselae* IgG bleken van beperkte waarde bij het vaststellen van acute CSD, omdat de sensitiviteit laag was en IgG antistoffen veel voorkomen in de normale bevolking ('high seroprevalence'). In de nederlandse populatie komen twee *B. henselae* stammen het meeste voor. Circa twee derde van de CSD patiënten was geïnfecteerd met genotype I en één derde met genotype II. Hoewel niet significant voor alle testen, lijkt de sensitiviteit hoger te zijn bij genotype I geïnfecteerde patiënten, wat verklaard zou kunnen worden door het gebruik van genotype I stammen in de testen. De sensitiviteit van de IgM testen was het hoogst binnen 6 weken na ontstaan van symptomen, met een daling na 8 weken, terwijl IgG sensitiviteit het hoogst was bij 6-8 weken en daarna langzaam afnam. Een commerciële IgM IFA bleek geen diagnostische waarde te hebben in dit onderzoek.

Hoofdstuk 3 beschrijft de evaluatie van een *B. henselae* ELISA, zoals die werd gebruikt in routine laboratorium diagnostiek naar kattenkrabziekte. Honderdzesentwintig PCR-positieve CSD patiënten werden vergeleken met 126 controles met dezelfde leeftijd. Van de CSD

patiënten hadden 97% lymphadenopathie en 3% atypische CSD. We vonden een lage sensitiviteit voor bepaling van anti-*B. henselae* IgM (56%) en van IgG (36%), bij afkapwaarden afgesteld op hoge specificiteit (98%). De lage sensitiviteit van de IgG bepaling maakt deze, in onze ogen, onbruikbaar in de praktijk. Bij 55 patiënten met een negatieve of dubieuze uitslag werd een vervolgs serum ingestuurd om een verandering in de antistoffen aan te tonen, welke in 82% van de gevallen geen verschil liet zien.

De seroprevalentie van anti-*B. henselae* IgM liet een piek zien in de herfst en winter en was het hoogste in de leeftijdsgroep tussen 10 en 20 jaar. In een groep van patiënten met CSD symptomen met een negatieve PCR, werd een relatief hoge seroprevalentie van antistoffen gevonden tegen *B. henselae*, wat suggereert dat een negatieve PCR CSD niet altijd uitsluit. We concludeerden dat de sensitiviteit van zowel serologie als PCR afhankelijk is van het moment van monsterafname in het ziekteproces. We stelden dat bepaling van anti-*B. henselae* IgM in de klinische praktijk toch bruikbaar is, maar een negatieve IgM test sluit CSD niet uit.

In Hoofdstuk 4 werden statistische modellen gebruikt om de diagnostische waarde van IgM en IgG ELISA bepalingen te evalueren, waarbij ook gekeken werd naar de invloed van de leeftijd van de patiënt. In 155 CSD patiënten en 244 controles bleken IgM spiegels niet afhankelijk te zijn van de leeftijd. Maar in de controle groep nam de IgG spiegel wel significant toe met de leeftijd. Analyse van verschillende modellen liet zien dat IgM een betere voorspeller is van CSD dan IgG en dat de sensitiviteit toenam bij gebruik van beide. Hoewel een leeftijdsfactor de sensitiviteit van IgM en IgG nog verder leek te verhogen, leverde dit geen duidelijke toename op van positief en negatief voorspellende waarden van de test in de totale populatie. Echter, bij kinderen namen positief en negatief voorspellende waarden respectievelijk met 2% en 8% toe bij het gecombineerd gebruik van IgM en IgG met een leeftijdsfactor, vergeleken bij het gebruik van alleen IgM. Dit laatste zou wel relevant kunnen zijn in de praktijk.

In Hoofdstuk 5 wordt de evaluatie van zeven serologische testen besproken, waarbij gebruik werd gemaakt van de CSD en controle groepen beschreven in Hoofdstuk 2. Vijf testen waren gericht op IgM en twee op IgG antistoffen. Hierbij werden nieuwe commerciële testen bestudeerd, waaronder een test gemaakt met *B. henselae* van de Marseille-stam. Tevens werd serologische kruisreactiviteit getest in 289 patiënten met andere infectieziekten.

In zowel de huisgemaakte als de commerciële testen was de sensitiviteit van anti-*B. henselae* IgM detectie lager dan voor IgG. De sensitiviteit nam toe wanneer IgM en IgG beide werden beschouwd, maar daarbij nam de specificiteit af. Hoewel deze afname statistisch niet significant was in deze studie, kan deze in de praktijk wel relevant zijn.

De Houston-stam (genotype I) testen werden vergeleken met een nieuwe IgM IFA test met Marseille-stam (genotype II). Het gebruik van de Marseille-stam IFA bleek geen toegevoegde waarde te hebben wat betreft sensitiviteit en specificiteit en bleek serologische kruisreactiviteit te laten zien met andere antistoffen. Opvallend was dat de sensitiviteit van de Marseille

test lager was in patiënten die geïnfecteerd waren met de Marseille-stam dan in patiënten geïnfecteerd met de Houston-stam.

In serummonsters van patiënten met verschillende infectieuze lymfklierziekten (Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, *Toxoplasma gondii* en *Streptococcus pyogenes*) was er, variërend per test en per ziekte, 0-5% kruisreactiviteit in de 5 IgM testen en 0-8% in één van de IgG testen. Hoewel verschillend per test, was de kruisreactiviteit het hoogste in serummonsters van patiënten met *Coxiella burnetii* infectie (13-30%), welke zich zelden klinisch presenteren met dezelfde verschijnselen als CSD. We concludeerden dat de Marseille test geen toegevoegde waarde had en dat in het algemeen rekening gehouden moet worden met kruisreactiviteit bij de interpretatie van CSD serologie.

## Deel III

### ***B. henselae* PCR voor de diagnose kattenkrabziekte**

Hoofdstuk 6 beschrijft de validatie van een nieuwe huisgemaakte real-time PCR, die gericht is op het *groEL* gen van *B. henselae*, bij patiënten die verdacht werden van CSD. Deze nieuwe PCR vertoonde 100% overeenstemming met de conventionele 16S rDNA-based PCR in 73 klinische monsters. De nieuwe PCR testte alleen positief voor *Bartonella* stammen, en was negatief voor diverse andere bacteriën. We concludeerden dat deze real-time PCR een sensitieve, specifieke en snelle methode is die bruikbaar is in routine CSD diagnostiek.

In Hoofdstuk 7 wordt bovenstaande PCR methode gebruikt om DNA aan te tonen in serummonsters van bewezen CSD patiënten. In een klein aantal gevallen (3/18), was DNA aantoonbaar in het serum, maar de sensitiviteit van deze bepaling lijkt te laag voor klinische diagnostiek. In een klein aantal geteste volbloed en plasma monsters was geen DNA aan te tonen.

## Deel IV

### **Klinische aspecten van kattenkrabziekte**

In Hoofdstuk 8 bestuderen we de rol van *B. henselae* infectie bij het ontstaan van Henoch-Schönlein purpura (HSP). HSP is een vaatontsteking ('vasculitis') die voorkomt bij kinderen, waarvan de oorzaak onduidelijk is. We vergeleken *B. henselae* antistoffen in vijfenveertig HSP patiënten en negentig controles met dezelfde leeftijd en geslacht. Anti-*B. henselae* IgM bleek niet aantoonbaar bij HSP patiënten, en anti-*B. henselae* IgG kwam niet vaker voor bij HSP patiënten dan in controles. *B. henselae* DNA was niet detecteerbaar in serummonsters die

waren afgenomen in de acute fase. We concludeerden dat infectie met *B. henselae* geen significante rol speelt in HSP, hetgeen strijdig is met eerdere studies in de literatuur. We vonden ook geen verhoogde antistoffen tegen streptococci bij de HSP patiënten in vergelijking met controles. De oorzaak van HSP blijft nog onduidelijk.

In Hoofdstuk 9 wordt een casus beschreven van een kind met ontstoken wervels ('vertebral osteomyelitis') door *B. henselae* met een literatuuroverzicht van eerdere beschrijvingen van deze atypische presentatie van CSD. We concludeerden dat *B. henselae* vertebrale osteomyelitis een zeldzaam ziektebeeld is, dat zich meestal presenteert met koorts en soms met neurologische symptomen. De meeste patiënten kregen antibiotische therapie en een paar werden neurochirurgisch behandeld. Over het algemeen bleek dit ziektebeeld een goede prognose te hebben.

## Deel V

### Algemene discussie

Hoofdstuk 10 bevat de algemene discussie, waarin de bevindingen van dit proefschrift worden beschouwd en aanbevelingen voor toekomstig onderzoek worden gedaan. Laboratoriumdiagnostiek naar CSD door middel van serologie heeft meerdere beperkingen, zo is gebleken. De sensitiviteit is laag en de specificiteit bereikt niet de waarden die nodig zijn voor veilige diagnostische conclusies, waarbij ook rekening gehouden moet worden met serologische kruisreactiviteit. Ook het gebruik van PCR voor detectie van *B. henselae* DNA heeft beperkingen en blijkt niet toepasbaar op serum. Er is behoefte aan nieuwe diagnostische technieken. De ontwikkeling van een in-vitrotest gericht op de cellulaire afweer tegen *B. henselae* zou in de toekomst wellicht de diagnostiek kunnen verbeteren. Er lijkt geen verband te zijn tussen *B. henselae* infectie en HSP. Het inzicht in het klinisch spectrum van CSD, bij gezonde en bij immuungecompromitteerde patiënten, heeft zich in de afgelopen jaren uitgebreid.